

POLIBOTÁNICA

Núm. 26, pp. 113-125, ISSN 1405-2768; México, 2008

AUTOINCOMPATIBILIDAD Y PROTANDRÍA EN POBLACIONES
NATURALIZADAS DE *ALOE VERA* DE LA PENÍNSULA DE ARAYA,
VENEZUELA

José Imery-Buiza y Hernán Cequea-Ruiz

Laboratorio de Genética Vegetal, Departamento de Biología, Escuela de Ciencias,
Universidad de Oriente. Apdo. 245. Cumaná 6101, Venezuela.Correo electrónico: jimery@sucre.udo.edu.ve

RESUMEN

Se evaluó la sincronización y compatibilidad de los órganos reproductores de *Aloe vera* (L.) Burm. f. (Aloaceae), mediante cruzamientos en diferentes estadios florales y analizando la respuesta germinativa del polen en microcultivos de agar-sacarosa con presencia/ausencia del macerado de estigmas y estilos. Las observaciones *in vivo* indicaron que *A. vera* no produce frutos luego de polinizaciones intraespecíficas (entre flores de la misma planta o cruzamientos intra e interpoblacionales); sin embargo, el polen de *A. saponaria* Haw. (= *A. maculata* Medik.) promovió la formación de frutos y semillas híbridas en los cruces realizados 1-4 días después de antesis de la flor receptora. La germinación del polen y crecimiento de tubos polínicos *in vitro* se redujo significativamente en *A. vera* por efecto del tejido materno; mientras que en *A. saponaria* no existió diferencia entre medios de cultivo. Este estudio sugiere la existencia de protandria en *A. vera* con al menos 24 h de desfase entre órganos reproductores, y autoincompatibilidad esporofítica, favorecida por la escasa variabilidad genética entre las poblaciones analizadas.

Palabras clave: *Aloe*, dicogamia, reproducción, polen.

ABSTRACT

The synchronization and compatibility of the reproductive organs of *Aloe vera* (L.) Burm. f. (Aloaceae) were evaluated by carrying out crosses at different flowering stages and by analyzing the germination response of pollen in saccharose-agar microcultures with or without macerated stigmas and styles. *In vivo* observations showed that *A. vera* does not produce fruits following intraspecific pollination, either between flowers of the same plant or as a result of intra- or interpopulational crosses. However, the pollen from *A. saponaria* Haw. (= *A. maculata* Medik.) promoted the formation of fruits and hybrid seeds in crosses performed from 1 to 4 days after anthesis in the receptor flower. Pollen germination and *in vitro* pollen tube growth were significantly reduced in *A. vera* by the presence of mother tissue, whereas in *A. saponaria* there were no differences between culture media. This research suggests the existence of protandry in *A. vera* with at least 24 h of disparity between maturation of reproductive organs, and sporophytic self-incompatibility, the latter being favored by the low genetic variability of the populations under study.

Key words: *Aloe*, dichogamy, reproduction, pollen.

INTRODUCCIÓN

La liberación temprana del polen con respecto a la receptividad del estigma (protandria) está muy extendida en especies con flores hermafroditas, monoicas y andromonoicas (Bertin & Newman, 1993). Este tipo de dicogamia, en combinación con la autoincompatibilidad, reduce las oportunidades para la autopolinización dentro de flores hermafroditas y han sido consideradas tradicionalmente como mecanismos que evitan los efectos genéticos perjudiciales de la autofertilización (Holtsford & Ellstrand, 1990; Brunet & Eckert, 1998).

La dicogamia es igualmente común en hermafroditas autocompatibles y autoincompatibles, lo cual sugiere que la prevención de la autofertilización no es sólo la explicación para su evolución (Lloyd & Yates, 1982; Bertin, 1993). Una ventaja potencial de la dicogamia incluye la menor interferencia del polen emitido por la flor con respecto al polen externo y el incremento de la cantidad de polen disperso hacia otros individuos (Imbert & Richards, 1993). En consecuencia, si una especie es autocompatible o no, la anulación de la autopolinización puede mejorar el éxito reproductivo de un individuo (Snow & Grove, 1995).

La familia Aloaceae comprende a los géneros *Aloe*, *Gasteria*, *Haworthia*, *Lomatophyllum*, *Chortolirion*, *Poellnitzia* y *Astroloba*, con aproximadamente 700 especies nativas de África, Madagascar, Arabia e islas del Océano Índico, aprovechadas por su valor ornamental o de uso medicinal (Rowley, 1997; Smith & Steyn, 2004). Al ser cultivadas bajo condiciones de vivero, muchas de estas plantas raramente producen semillas, a menos que existan varias especies adyacen-

tes y se produzcan polinizaciones cruzadas (Riley & Majumdar, 1967). Obviamente, estas especies con flores hermafroditas deben presentar mecanismos que regulen la compatibilidad y sincronía en las funciones reproductivas que aún no han sido extensamente estudiadas.

La primera referencia de autoincompatibilidad en el género *Aloe* fue propuesta por Berger (1908), el cual indicó que *A. arthiopica*, *A. pluridens*, *A. caesia* y otras especies fallaron en producir semillas después de la autopolinización. Una evaluación más extensa dentro de la familia Aloaceae fue registrada por Marshak (1934), quien encontró que algunas especies del género *Gasteria*, entre ellas, *G. brevifolia*, *G. nigricans*, *G. planifolia*, *G. pulchra* y *G. verrucosa*, fueron autoincompatibles; mientras que otras como *G. lingua*, *G. disticha* y *G. sulcata*, resultaron autocompatibles. Sin embargo, al realizar cruzamientos entre ambas clases de plantas, todas las combinaciones fueron compatibles, generándose frutos de mayor tamaño y mayor cantidad de semillas que los obtenidos de especies autocompatibles. Brewbaker & Gorrez (1967) confirmaron la autoincompatibilidad de las especies *G. verrucosa* y *G. picta*, observando la ausencia de frutos luego de practicar 3100 autopolinizaciones manuales. No obstante, de los cruces recíprocos entre estas especies se generaron híbridos vegetativamente viables, pero que al igual que sus parentales, no formaron frutos luego de la autopolinización.

En cuanto a la existencia de dicogamia, Newton (2004), refiere que la mayoría de las especies del género *Aloe* son protándricas. Esta generalización es basada en observaciones realizadas en poblaciones naturales

del continente africano y en plantas conservadas bajo condiciones controladas dentro de jardines botánicos en el viejo mundo. En Venezuela, los trabajos de Imery & Cequea (2002), Albornoz & Imery (2003) e Imery (2007a), mencionan la posibilidad de que exista esta misma condición reproductiva en poblaciones de *A. vera*, naturalizadas a lo largo de la península de Araya, sin poder precisar el grado de asincronía entre órganos florales.

En la presente investigación se planteó analizar la autoincompatibilidad esporofítica y la separación temporal entre la liberación del polen y receptividad efectiva de los estigmas en flores de *A. vera*, a fin de dilucidar su influencia sobre la formación de frutos y semillas, y de esta manera, contribuir también al conocimiento de algunos aspectos de biología reproductiva, necesarios para la planificación de cruzamientos en programas de mejora genética de rasgos agrónomicamente importantes, o para la obtención de híbridos de interés ornamental.

MATERIAL Y MÉTODOS

Material vegetal y sitio de estudio

El estudio se realizó en plantas de *A. vera* cultivadas en el vivero del Departamento de Biología de la Universidad de Oriente en Cumaná, Venezuela, las cuales provenían originalmente de ocho poblaciones naturalizadas a lo largo de la península de Araya, entre 10° 33' 44" N, 64° 14' 12" O y 10° 35' 34" N, 64° 02' 26" O (Albornoz & Imery, 2003). Las plantas de *A. saponaria* fueron adquiridas comercialmente en viveros locales. Ambas especies fueron identificadas por el primer autor, tomando en cuenta las descripciones morfotaxonómicas de

Jacobsen (1955); Carter (1994); Van-Wyk & Smith (1996). Todos los especímenes utilizados se conservan actualmente en la colección de plantas suculentas (UDO-Biología), bajo los registros 104/2S (*A. saponaria*) y 129/2V (*A. vera*). Una muestra de cada especie fue depositada en el herbario Isidro Ramón Bermúdez Romero (IRBR) de la Universidad de Oriente.

Estadios de floración y cruzamientos

Entre los meses de noviembre de 2005 a marzo de 2006, se seleccionaron cinco plantas por cada población de *A. vera*, que presentaran inflorescencias próximas a iniciar la floración. En ese mismo periodo y progresivamente con la apertura de las flores en las inflorescencias receptoras, se practicaron polinizaciones dirigidas, empleando polen: 1) de flores de la misma planta, 2) de plantas de la misma población, 3) de plantas de las otras siete poblaciones, y 4) de diez plantas de *A. saponaria*. Se utilizaron al menos 40 flores receptoras, identificadas para cada tipo de polinización (autopolinización y polinización cruzada intra e interespecífica). Todos los cruzamientos se ejecutaron entre las 7:00 y 8:30 a.m., mediante frote manual de las anteras donadoras sobre estigmas a diferentes tiempos con relación a la antesis de la flor receptora (estadios florales). Adicionalmente, se practicaron cruzamientos recíprocos con polen de *A. vera* sobre estigmas de *A. saponaria* y autopolinizaciones controladas entre plantas de *A. saponaria*. Se utilizaron sólo las anteras maduras que experimentaron la dehiscencia posterior a la colecta (6:00 a.m.) y bajo condiciones de confinamiento en frasco de vidrio estéril. Todas las flores receptoras fueron emasculadas y protegidas con cilindros plásticos sellados con calor en uno de sus extremos.

Los estadios florales se identificaron como: -2d (dos días antes de la antesis), -1d (un día antes de la antesis), 0d (antesis) y 1d, 2d, 3d, 4d y 5d (días después de antesis). En esta investigación la antesis fue definida como el momento en el cual el perianto se abre y expone las anteras. Debido a la coincidencia entre la liberación del polen (dehiscencia de la antera) y la apertura natural del perianto, los cruzamientos antes de la antesis (-2d y -1d), se practicaron luego de un corte apical de los tépalos, sin alterar el resto de los verticilos florales. La identificación floral y el registro cronológico de la liberación del polen en la flor receptora permitieron confirmar la precisión de los cruces antes y después de la antesis. Para evitar polinizaciones no controladas durante el periodo de cruzamientos, se protegieron las inflorescencias con bolsas de malla plástica ($\varnothing = 100 \mu\text{m}$), aseguradas en la base de cada racimo. A partir de los frutos formados se determinó la eficiencia de los cruzamientos (% eficiencia = número de frutos formados/número de flores polinizadas*100). Durante esta etapa experimental se registraron valores mínimos y máximos de temperatura y humedad relativa de 21.8 a 30.9 °C y 51.2 a 83.7%, respectivamente.

Germinación de polen *in vitro*

El polen recién colectado de ambas especies se cultivó individualmente sobre portaobjetos horadados con medios de cultivo a base de agar-agar (4 g l⁻¹) y sacarosa (0.06 mol. l⁻¹) como control (Conger, 1953) (medio A), y en agar-agar (8 g l⁻¹) y sacarosa (0.12 mol l⁻¹), mezclados en proporción 1:1 con un preparado de estigmas y estilos de *A. vera* provenientes de flores protegidas (de las mismas plantas donadoras del polen) y con dos días de antesis. Estos tejidos fueron

macerados en tubos eppendorf con varillas de vidrio estériles, filtrados con gasa y mezclados con el medio de cultivo antes de su gelificación (medio B). Al final, la concentración de agar y sacarosa de ambos medios (A y B), resultaron similares. La germinación del polen y el tamaño de los tubos polínicos se evaluaron a los 60 min de cultivo *in vitro* en 20 campos microscópicos (100X) sobre 10 láminas para cada especie y medio de cultivo. Un grano de polen se consideraba como germinado cuando su eje longitudinal resultaba menor o igual a la longitud del tubo polínico emitido (Kalinganire *et al.*, 2000). El recuento de granos de polen germinados (GPG) y no germinados (GPNG) se utilizó para calcular el porcentaje de germinación en cada campo de observación (%G = $\text{GPG}/(\text{GPG}+\text{GPNG}) \times 100$). La longitud del tubo polínico se determinó mediante sistema computarizado "SigmaScan Pro 5" a partir de fotomicrografías digitales tomadas con cámara Canon ES870 acoplada a un microscopio de luz Bausch & Lomb PBV-4B.

Los resultados *in vivo* se analizaron a partir de media aritmética y desviación estándar con *N* variables. La comparación estadística entre medios de cultivo se realizó mediante la prueba de *t* de student ($p < 0.05$) con *N* = 200 (Sokal & Rohlf, 1979).

RESULTADOS

Al emplear el polen de *A. saponaria* se observó la formación de frutos y semillas en aquellas flores de *A. vera* que habían liberado sus granos de polen entre uno a cuatro días antes del cruce (tabla 1). Los frutos generados de estos cruzamientos interespecíficos presentaron forma de cápsulas subglobulares y membranosas, con

semillas aladas dispuestas en dos hileras longitudinales dentro de cada uno de los tres lóculos del fruto (Fig. 1).

El mayor número de semillas híbridas y tamaño de los frutos se desarrollaron a partir de cruzamientos realizados con polen de *A. saponaria* después de dos días de la dehiscencia en las anteras de la flor receptora de *A. vera* (tabla 1). En los cruces recíprocos, la formación de frutos y semillas híbridas resultó considerablemente baja, con una eficiencia de 5.85% y 3.2 ± 1.1 semillas/fruto, aún después de la ejecución de 205 cruzamientos con polen de *A. vera* sobre

estigmas de *A. saponaria*. La mayoría de las autopolinizaciones artificiales entre plantas de *A. saponaria* produjeron frutos y semillas con características similares a las observadas en condiciones naturales (cápsulas de 2.4 ± 0.3 cm de longitud y 17.6 ± 4.5 semillas/fruto). Las polinizaciones artificiales restantes, incluyendo las autopolinizaciones y las polinizaciones cruzadas intra e inter-poblacionales entre plantas de *A. vera*, no presentaron indicios de formación de frutos. Este mismo resultado se observó en todas aquellas plantas de *A. vera* (45 plantas de cada población) que no formaron parte de los grupos seleccionados para las poliniza-

Tabla 1. Formación de frutos y semillas en *Aloe vera* a partir de cruces dirigidos con *A. saponaria* a diferentes tiempos de antesis.

Tiempo de antesis (días) ¹	Flores polinizadas	Frutos formados	Eficiencia (%) ²	Semilla/fruto
- 2	284	0	0	0
- 1	345	0	0	0
0	406	0	0	0
1	318	122	38.2 ± 4.31 (31.3 – 49.6)	29.6 ± 3.88 (21 – 34)
2	297	242	81.4 ± 6.18 (72.7 – 100.0)	37.5 ± 4.67 (32 - 45)
3	369	234	63.3 ± 4.72 (56.3 – 75.4)	31.4 ± 3.95 (25 – 36)
4	336	46	13.7 ± 6.59 (0.0 – 19.5)	25.2 ± 6.21 (15 - 29)
5	304	0	0	0

¹: Número precedido de signo negativo indica días antes de la antesis en la flor receptora.

²: (Número de frutos formados/número de flores polinizadas)*100

Los valores indican (mínimo-máximo), promedio \pm desviación estándar.



Fig. 1. Formación de frutos y semillas en *Aloe vera* a partir de cruces con polen de *A. saponaria*, a los dos días después de la antesis de las flores receptoras. Barra = 1 cm.

ciones manuales y que fueron dejadas bajo polinización abierta entre individuos de la misma especie.

El extracto materno de *A. vera* en los cultivos *in vitro*, redujo significativamente ($p < 0.05$) la germinación de sus granos de polen y el crecimiento de los tubos polínicos. No obstante, la presencia del macerado de estigmas y estilos de *A. vera*, no mostró efectos significativos sobre el porcentaje de germinación y longitud de los tubos polínicos en los granos de polen de *A. saponaria* (tabla 2).

DISCUSIÓN

Algunos estudios de fenología reproductiva en especies de *Aloe* nativas de Sudáfrica (Reynolds, 1950; Nicolson & Nepi, 2005), África tropical y Madagascar (Reynolds,

1966), África Oriental (Newton, 2004) e Isla Mayotte (Pailler *et al.*, 2002), indican que este grupo de plantas manifiestan una reiterada tendencia a florecer durante la temporada seca y presentan flores protándricas y autoincompatibles, entre las cuales ocurre principalmente polinización cruzada ornitofílica. Las plantas de *A. vera* estudiadas en este trabajo, bajo las condiciones ambientales del oriente venezolano, florecieron también en un periodo bastante marcado de la estación seca, entre los meses de noviembre a marzo, pero sólo formaron frutos y semillas al ser fertilizadas por el polen de *A. saponaria*.

Carter (1994), menciona que las poblaciones naturales de *A. vera*, localizadas en la zona noroccidental de África y la península arábiga, forman cápsulas dehiscentes con semillas aladas típicas de los aloes; sin

Tabla 2. Porcentaje de germinación y longitud del tubo polínico en granos de polen de *Aloe vera* y *A. saponaria* cultivados bajo condiciones *in vitro*.

Especie	Medio de cultivo ¹	Germinación del polen (%) ²	Longitud del tubo polínico (μm)
<i>A. vera</i>	A	39.3 ± 9.04 (23.6 – 59.7)	173.4 ± 46.84 (18.5 – 284.9)
	B	14.2* ± 6.51 (3.8 – 24.1)	55.8* ± 15.32 (10.4 – 73.6)
<i>A. saponaria</i>	A	45.1 ± 9.24 (32.8 – 63.7)	225.6 ± 51.73 (29.8 – 318.1)
	B	42.7 ± 7.62 (29.4 – 61.5)	207.2 ± 46.11 (21.9 – 286.3)

¹: A = agar-agar/sacarosa, B = agar-agar/sacarosa + estigmas y estilos de *A. vera*.

²: (Granos de polen germinados/(granos de polen germinados + no germinados))*100

Los valores indican (mínimo-máximo) promedio ± desviación estándar.

*: Diferencia significativa entre medios de cultivo (ts, p < 0.05).

embargo, en las poblaciones naturalizadas de la península de Araya y otras regiones costeras del estado Sucre (Venezuela), no se ha observado hasta el momento ningún fruto, luego de la floración de miles de plantas que han sido visitadas frecuentemente por numerosos vectores, tales como colibríes (*Leucippus fallax* y *Amazilia tobaci*), abejas (*Apis mellifera* y *Trigona* sp.) y avispas (*Poliste* sp., *Eumenes* sp. y *Vespa* sp.) que transportan el polen entre plantas de *A. vera* y lo depositan efectivamente sobre sus estigmas. Es claro entonces que las diferencias de latitud y condiciones edafoclimáticas entre las regiones de estudio deben incidir de alguna manera sobre las fenofases reproductivas de estas plantas, e incluso, interaccionar con condiciones fisiológicas (Jonas & Geber, 1999; Lobello *et al.*, 2000), desarrollo floral (Bradshaw

et al., 1997), viabilidad y longevidad del polen (Fuss & Sedgley, 1991; Tangmitcharoen & Owens, 1997; Hong *et al.*, 1999; Johnson & Edwards, 2000) o receptividad del pistilo (Nepi & Pacini, 1993), que afectan la formación de frutos y semillas viables. No obstante, considerando que las plantas estudiadas en el viejo mundo están localizadas en el centro de origen primario de esa especie (Carter, 1994; Van-Wyk & Smith, 1996; Newton, 2004), es posible que su éxito reproductivo esté influenciado también por una mayor diversidad genética dentro de sus poblaciones.

En América y algunas otras regiones del mundo donde se introdujeron plantas de *A. vera*, su propagación es exclusivamente vegetativa (Keijzer & Cresti, 1987; Natali *et al.*, 1990), originándose poblaciones clo-

nales con muy poca o ninguna variabilidad genética (Imery & Cequea, 2002; Albornoz & Imery, 2003). Esta condición puede ser una de las razones fundamentales para que sólo se produzcan frutos con semillas, a partir de cruzamientos interespecíficos como los practicados aquí con *A. saponaria*.

Las diferencias observadas en la formación de frutos y semillas luego de las autopolinizaciones artificiales en ambas especies, permiten sugerir a primera vista que *A. saponaria* es autocompatible; mientras que *A. vera* es autoincompatible. Todas las polinizaciones intraespecíficas realizadas manualmente en *A. vera*, resultaron infructuosas, incluso en aquellos periodos de mayor receptividad de los estigmas (dos a tres días después de la antesis). Estos indicios experimentales de autoincompatibilidad, fueron corroborados al observar la inhibición de la germinación del polen y crecimiento del tubo polínico en los medios de cultivo con los macerados de estigmas y estilos provenientes de flores de la misma especie. Más aún, la presencia de estos tejidos en el medio de cultivo resultó inocua sobre la germinación de los granos de polen de *A. saponaria*, sugiriendo una vez más, que lo observado en *A. vera* debe estar sujeto a la existencia de un mecanismo de autoincompatibilidad que actúe posiblemente en la interacción genética polen-pistilo (Shiba *et al.*, 2001; Hiscock & kües, 1999; Chookajorn *et al.*, 2003; Tsukamoto *et al.*, 2003) o en las proteínas movilizadas sobre el estigma durante la hidratación del polen (Snowman *et al.*, 2002; Hiscock, 2002) y elongación de la pared del tubo polínico (Li & Linskens, 1983; Geitmann *et al.*, 2000), limitando así, la respuesta germinativa del polen en presencia de tejido materno.

La protandria y autoincompatibilidad son mecanismos vegetales muy eficientes para prevenir la autopolinización mediante el desfase entre órganos reproductores y el efecto de inhibición ejercido sobre la germinación del polen o la unión entre gametos producidos por el mismo individuo o grupos de individuos genéticamente similares (Montaner *et al.*, 2000). En la mayoría de las angiospermas, y seguramente en aquellas plantas pertenecientes a la familia Aloaceae, el control genético de la autoincompatibilidad es ejercido por un sistema de alelos múltiples S1, S2, S3, S4, etc., en el que un sólo locus polimórfico (S) regula esta reacción, dependiendo de la similitud alélica entre genomas haploides (autoincompatibilidad gametofítica) o entre genomas parentales (autoincompatibilidad esporofítica) (Nagylaki, 1970; Hiscock & kües, 1999). Estas estrategias reproductivas reducen los efectos perjudiciales de la endogamia y promueven las oportunidades para que se produzcan numerosas combinaciones genéticas que incrementan la diversidad (Brunet, 1996; Jonas & Gerber, 1999; Ortega *et al.*, 2000; Runions & Geber, 2000).

La dicogamia puede también prevenir la autopolinización dentro de las flores, pero esto raramente evita la polinización entre flores hermafroditas que se presentan simultáneamente en la misma planta (McDade, 1986; Barrett *et al.*, 1994; Back *et al.*, 1996). Esto ocasiona que en plantas como *A. vera*, en las cuales existe geitonogamia interfloral, debido a sus inflorescencias indeterminadas en forma de racimos, la dicogamia actúe de manera combinada con otras barreras biológicas que reducen las posibilidades de autofecundación. En este sentido, los resultados de la presente

investigación revelan que las plantas de *A. vera*, no sólo liberan sus granos de polen a intervalos diferentes con respecto a la receptividad de sus estigmas (al menos un día de diferencia), sino que probablemente presentan también un sistema de autoincompatibilidad esporofítica que regula la germinación del polen y el crecimiento del tubo polínico dentro del pistilo.

Además de las barreras reproductivas determinadas en este trabajo, existen anomalías citogenéticas que afectan la microsporogénesis de *A. vera* y reducen la fertilidad de sus granos de polen en más de 50% (Sapre, 1975; Imery & Cequea, 2002; Imery, 2007b). Es posible que esta disminución de la fertilidad del polen, como consecuencia de la acumulación de mutaciones que actúan como carga genética mantenida por la propagación asexual, sea la responsable de la menor formación de frutos y semillas híbridas en los cruces recíprocos en los que se empleó polen de *A. vera*. La combinación de todos estos fenómenos biológicos restringe las expectativas de reproducción sexual de *A. vera* en poblaciones aisladas, que se originaron mediante propagación vegetativa a partir de uno o pocos individuos fundadores que se introdujeron al Caribe y América del Sur durante el intercambio de especies realizada por los españoles entre los siglos XVI y XVII.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen las contribuciones de William Lampe y Carlos Velásquez y el financiamiento otorgado por el Consejo de Investigación de la Universidad de Oriente a través del proyecto CI-5-010101-1223/05.

LITERATURA CITADA

- Albornoz, A.R. & J. Imery, 2003. "Evaluación citogenética de ocho poblaciones de *Aloe vera* L. de la península de Araya, Venezuela". *Ciencia* (LUZ), **11**(1): 5-13.
- Back, A.J., P. Kron & S.C. Stewart, 1996. "Phenological regulation of opportunities for within-inflorescence geitonogamy in the clonal species, *Iris versicolor* (Iridaceae)". *Amer. J. Bot.*, **83**: 1033-1040.
- Barrett, S.C.H., L.D. Harder & W.W. Cole, 1994. "Effects of flower number and position on self-fertilization in experimental populations of *Eichhornia paniculata* (Pontederiaceae)". *Funct. Ecol.*, **8**: 526-535.
- Berger, A., 1908. "Aloineae". *Das Pflanzenreich*, **33**: 1-347.
- Bertin, R.I., 1993. "Incidence of monoecy and dichogamy in relation to self-fertilization in angiosperms". *Amer. J. Bot.*, **80**: 557-560.
- Bertin, R.I. & C.M. Newman, 1993. "Dichogamy in angiosperms". *Bot. Rev.*, **59**: 112-152.
- Bradshaw, W.E., C.M. Holzapfel, C.A. Kleckner & J.J. Hard, 1997. "Heritability of development time and protandry in the pitcher-plant mosquito, *Wyeomyia smithii*". *Ecol.*, **78**: 969-976.
- Brewbaker, J.L. & D.D. Gorrez, 1967. "Genetics of self-incompatibility in

- the monocot genera, *Ananas* (pine-apple) and *Gasteria*". *Amer. J. Bot.*, **54**: 611-616.
- Brunet, J., 1996. "Male reproductive success and variation in fruit and seed set in *Aquilegia caerulea* (Ranunculaceae)". *Ecol.*, **77**: 2458-2471.
- Brunet, J. & C.G. Eckert, 1998. "Effects of floral morphology and display on out-crossing in Blue Columbine, *Aquilegia caerulea* (Ranunculaceae)". *Funct. Ecol.*, **12**: 596-606.
- Carter, S., 1994. *Flora of tropical east Africa. Aloaceae*. Royal Botanic Gardens, Kew, UK. 61 p.
- Chookajorn, T., A. Kachroo, D.R. Ripoll, A.G. Clark & J.B. Nasrallah, 2003. "Specificity determinants and diversification of the *Brassica* self-incompatibility pollen ligand". *PNAS*, **101**: 911-917.
- Conger, A., 1953. "Culture of pollen tubes for chromosomal analysis at the pollen tube division". *Stain Tech.*, **28**: 289-293.
- Fuss, A.M. & M. Sedgley, 1991. "Pollen tube growth and seed set of *Banksia coccinea* R.Br. (Proteaceae)". *Ann. Bot.*, **68**: 377-384.
- Geitmann, A., B.N. Snowman, A.M.C. Emons & V.E. Franklin-Tong, 2000. "Alterations in the actin cytoskeleton of pollen tubes are induced by the self-incompatibility reaction in *Papaver rhoeas*". *The Plant Cell*, **12**: 1239-1251.
- Hiscock, S.J., 2002. "Pollen recognition during the self-incompatibility response in plants". *Genome Biol.*, **3**: reviews 1004.1-1004.6.
- Hiscock, S.J. & U. Kües, 1999. "Cellular and molecular mechanisms of sexual incompatibility in plants and fungi". *Int. Rev. Cytol.*, **193**: 165-195.
- Holtsford, T.P. & N.C. Ellstrand, 1990. "Inbreeding effects in *Clarkia tembloriensis* (Onagraceae) populations with different out-crossing rates". *Evol.*, **44**: 2031-2046.
- Hong, T.D., R.H. Ellis, J. Buitink, C. Walters, F.A. Hoekstra & J. Crane, 1999. "A model of the effect of temperature and moisture on pollen longevity in air-dry store environments". *Ann. Bot.*, **83**: 167-173.
- Imbert, F.M. & J.H. Richards, 1993. "Protandry, incompatibility, and secondary pollen presentation in *Cephalanthus occidentalis* (Rubiaceae)". *Amer. J. Bot.*, **80**: 395-404.
- Imery, J., 2007a. "Caracterización genética de parentales e híbridos diploides [VS] y triploides [VVS] entre *Aloe vera* (L.) Burm. f. [2V, 4V] y *Aloe saponaria* Haw. [2S] (Aloaceae)". Tesis doctoral. Facultad de Ciencias. U.C.V. 188 p.
- , 2007b. "Inestabilidad cariológica durante la formación de células madres del polen en *Aloe vera* (Aloaceae)". *Rev. Biol. Trop.*, **55**(3-4): 805-813.

- Imery, J. & H. Cequea, 2002. "Anormalidades cromosómicas en la microsporangénesis de *Aloe vera* (L.) Burm.f. (Aloaceae)". *Acta Bot. Venez.*, **25**(2): 143-152.
- Jacobsen, H., 1955. *Succulent plants. Description, cultivation and uses of succulent plants, other than cacti* (authorized translation by Higgins, V.). Ernest Benn Limited. London, UK. 293 p.
- Johnson, S.D. & T.J. Edwards, 2000. "The structure and function of orchid pollinaria". *Plant Syst. Evol.*, **222**: 243-269.
- Jonas, C.S. & M.A. Gerber, 1999. "Variation among populations of *Clarkia unguiculata* (Onagraceae) along altitudinal and latitudinal gradients". *Amer. J. Bot.*, **86**: 333-343.
- Kalinganire, A., C.E. Harwood, M.U. Slee & A.J. Simons, 2000. "Floral structure, stigma receptivity and pollen viability in relation to protandry and self-incompatibility in silky oak (*Grevillea robusta* A. Cunn.)". *Ann. Bot.*, **86**: 133-148.
- Keijzer, C.J. & M. Cresti, 1987. "A comparison of anther tissue development in male sterile *Aloe vera*, and male fertile *Aloe ciliaris*". *Ann. Bot.*, **59**: 533-542.
- Li, Y.Q. & H.F. Linskens, 1983. "Wall-bound proteins of pollen tubes after self- and cross pollination in *Lilium longiflorum*". *Theor. Appl. Genet.*, **67**: 11-16.
- Lobello, G., M. Fambrini, R. Baraldi, B. Lercari & C. Pugliesi, 2000. "Hormonal influence on photocontrol of the protandry in the genus *Helianthus*". *J. Exp. Bot.*, **51**: 1403-1412.
- Lloyd, D.G. & J.M.A. Yates, 1982. "Intra-sexual selection and the segregation of pollen and stigmas in hermaphrodite plants, exemplified by *Wahlenbergia albomarginata* (Campanulaceae)". *Evol.*, **36**: 903-913.
- McDade, L.A., 1986. "Protandry, synchronized flowering and sequential phenotypic unisexuality in neotropical *Pentagonia macrophylla* (Rubiaceae)". *Oecologia*, **68**: 218-223.
- Marshak, A., 1934. "Chromosome and compatibility in the Aloineae". *Amer. J. Bot.*, **21**: 592-597.
- Montaner, C., E. Floris & J.M. Álvarez, 2000. "Is self-compatibility the main breeding system in borage (*Borago officinalis* L.)? Theor." *Appl. Genet.*, **101**: 185-189.
- Nagylaki, T., 1970. "The deterministic behavior of self-incompatibility alleles". *Genetics*, **79**: 545-550.
- Natali, L., I. Castorena & A. Cavallini, 1990. "In vitro culture of *Aloe barbadensis* Mill. micropropagation from vegetative meristems". *Plant Cell, Tissue & Organ Culture*, **20**: 71-74.
- Nepi, M. & E. Pacini, 1993. "Pollination, pollen viability and pistil receptivity in *Cucurbita pepo*". *Ann. Bot.*, **72**: 527-536.

- Newton, L.E., 2004. "Aloe in habitat". En: *Aloes, the genus Aloe*. Reynolds T (Ed.) CRC Press. Boca Ratón, EU, pp. 3-14.
- Nicolson, S.W. & M. Nepi, 2005. "Dilute nectar in dry atmospheres: nectar secretion patterns in *Aloe castanea* (Asphodelaceae)". *Int. J. Plant Sci.*, **166**: 227-233.
- Ortega, J.F., A. Santos-Guerra, K. Seung-Chul & D. Crawford, 2000. "Plant genetic diversity in the Canary Islands: a conservation perspective". *Amer. J. Bot.*, **87**: 909-919.
- Pailler, T., B. Warren & J.N. Labat, 2002. "Biologie de la reproduction de *Aloe mayottensis* (Liliaceae), une espece endemique de isle Mayotte (Ocean Indien)". *Canad. J. Bot.*, **80**: 340-348.
- Reynolds, G.W., 1950. *The Aloes of South Africa*. Johannesburg: Aloes of South Africa Book Fund. 520 pp.
- , 1966. *The Aloes of Tropical Africa and Madagascar*. Mbabane: Aloes Book Fund. 537 pp.
- Riley, H.P. & S.K. Majumdar, 1979. *The Aloineae. A biosystematic survey*. The University Press of Kentucky. EU, 180 pp.
- Rowley, G.D., 1997. *A history of succulent plant*. Strawberry Press. California, EU, 409 pp.
- Runions, J.C. & M.A. Geber, 2000. "Evolution of the self-pollinating flower in *Clarkia xantiana* (Onagraceae). I. Size and development of floral organs". *Amer. J. Bot.*, **87**: 1439-1451.
- Sapre, A.B., 1975. "Meiosis and pollen mitosis in *Aloe barbadensis* Mill. (*A. perfoliata* var. *vera* L., *A. vera* Auth. non Mill.)". *Cytologia*, **40**: 525-533.
- Shiba, H., S. Takayama, M. Iwano, H. Shimosato, M. Funato, T. Nakagawa, F-S. Che, G. Suzuki, M. Watanabe, K. Hinata & A. Isogai, 2001. "A pollen coat protein, SP11/SCR, determines the pollen S-specificity in the self-incompatibility of *Brassica* species". *Plant Physiol.*, **125**: 2095-2103.
- Smith, G.F. & E.M.A. Steyn, 2004. "Taxonomy of Aloaceae". En: *Aloes, the genus Aloe*. Reynolds T (Ed.) CRC Press. Boca Ratón, EU, pp. 15-36.
- Snow, A.A. & K.F. Grove, 1995. "Protandry, a neuter phase, and unisexual umbels in a hermaphroditic, neotropical vine (*Bomarea acutifolia*, Alstroemeriaceae)". *Amer. J. Bot.*, **82**: 741-744.
- Snowman, B.N., D.R. Kovar, G. Shevchenko, V.E. Franklin-Tong & C.J. Staiger, 2002. "Signal-mediated depolymerization of actin in pollen during the self-incompatibility response". *The Plant Cell*, **14**: 2613-2626.
- Sokal, R. & F. Rohlf, 1979. *Biometría, principios y métodos estadísticos en la investigación biológica*. H. Blume Edit., Barcelona, España. 823 pp.

- Tangmitcharoen, S. & J.N. Owens, 1997. "Pollen viability and pollen-tube growth following controlled pollination and their relation to low fruit production in teak (*Tectona grandis* Linn. f.)". *Ann. Bot.*, **80**: 401-410.
- Tsukamoto, T., T. Ando, K. Takahashi, T. Omori, H. Watanabe, H. Kokubun, E. Marchesi & T.H. Kao, 2003. "Breakdown of self-incompatibility in a natural population of *Petunia axillaris* caused by loss of pollen function". *Plant Physiol.*, **131**: 1903-1912.
- Van-Wyk, B.E. & G. Smith, 1996. "Guide to the Aloes of South Africa. Briza publications. Pretoria, South Africa". 302 pp.